F. Wilcke

Ueber Gonokokkenkulturen in der Feuchten Kammer.

1937

Hamburg.

Aus der Universitätsklinik
für Haut- und Geschlechtskrankheiten Hamburg-Eppendorf.
Direktor: Prof. Dr. Mulzer.

Ueber Gonokokkenkulturen in der Feuchten Kammer.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
medizinischen Fakultät der Hansischen Universität

vorgelegt von

Friedrich Wilcke

aus Peine.

Hamburg 1937

Buchdruckerei Fritz Puhlmann Guben

Gedruckt mit Genehmigung
der medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Berichterstatter: Prof. Dr. Mulzer.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Nachdem Neisser im Jahre 1879 mit der mikroskopischen Entdeckung der Gonokokken die Aetiologie der Gonorrhoe klargestellt und damit der Infektionstheorie dieses Krankheitsbildes zum Siege verholfen hatte, wurde nunmehr von zahlreichen Forschern die kulturelle Reinzüchtung des Erregers angestrebt, um durch Übertragung des Materials auf die menschliche Schleimhaut auch noch letzte Unklarheiten zu beseitigen. Sowohl Neisser als auch alle anderen Forscher machten jedoch die eigenartige Feststellung, daß der Gonococcus im Gegensatz zu fast allen anderen Bakterien nicht die geringste Neigung zeigte, auf den gebräuchlichen Nährböden von Peptongelatine zu wachsen. Der ausgesprochen parasitäre Charakter dieses Erregers verlangte offenbar zu künstlichem Wachstum ein Milieu, das dem natürlichen äußerst stark angenähert war. Mit dieser Erfahrung war man erheblich weitergekommen, und ein endgültiger Schluß der Beweiskette konnte nicht mehr lange ausbleiben.

Diesen unbestrittenen Beweis der aetiologischen Bedeutung der Gonokokken durch Kultur und Überimpfung erbracht zu haben, bleibt das entscheidende Verdienst von Bumm 1885. Er hat als erster den Gonococcus auf koaguliertem menschlichen Blutserum sicher rein gezüchtet und durch einwandfreie, erfolgreiche Übertragung späterer Generationen der Reinkulturen auf die menschliche Urethra die Spezifität der Gonokokken geklärt.

Vor Bumm haben Bokai, Neisser, Leistikow mit Löffler, ferner Krause, Sattler, Arning, Chameron, Sternberg, Oppenheimer u. a. Kulturversuche angestellt. Die einzigen, die wirkliche Gonokokkenkulturen erzielten, waren Leistikow mit Löffler und Krause.

Leistikow und Löffler verwandten Nährböden von Blutserum-Gelatine. Krause benutzte Hammelblutserum. Bumm stellte den Kulturboden aus menschlichem Blutserum her, das er aus der Placenta frisch Entbundener gewann. Uebertragungen von Kulturmaterial auf andere Nährböden, mit Gelatine versetzte Kulturflüssigkeiten oder Agarnährböden mißlangen vollständig. Günstigere Resultate erhielt Bumm mit Rinder- und Hammelblutseren, wenn auch das Wachstum hierbei viel langsamer und auch spärlicher erfolgte, als auf menschlichem Serum. Ein weiterer Nachteil war die Neigung dieser Kulturen zu spontanem Eingehen, wodurch sich die Weiterzüchtung über Passagen schwierig und unsicher gestaltete.

Schon frühzeitig wurde versucht, das Kulturverfahren als diagnostisches Hilfsmittel heranzuziehen. Zu Gunsten der Diagnose Gonorrhoe sprach jedoch ein Nichtangehen der Kultur: denn Neisser (1) hob 1889 als wichtiges Diagnostikum Ausbleiben des Wachstums von Gonokokken auf gewöhnlichen Nährböden hervor.

Die Gonokokken benötigten offenbar für ihr Weiterleben unter künstlichen Lebensbedingungen einen Stoff, der wahrscheinlich nur im menschlichen Organismus enthalten war. Von dieser Tatsache ausgehend, stellte Wertheim (2) Zuchtversuche auf einem Nährboden von menschlichem Blutserum und Agar an und erzielte damit gute Erfolge. Er dehnte die Versuche aus auf Nährböden, die anstelle des Blutserums andere eiweißreiche, seröse, menschliche Flüssigkeiten enthielten und kam zu dem Ergebnis, daß ein Kulturboden, gemischt aus Agar mit Ascitesflüssigkeit dem Blutserumboden noch überlegen war.

Zu gleicher Zeit berichteten Autoren von Zuchterfolgen auf Nährböden, die tierisches Eiweiß enthielten. Schon Bumm und Krause hatten ja diesen Weg mit einigem Erfolg beschritten. Tierseren waren meistens leichter zu bekommen, somit wurde auch das praktische Ziel ins Auge gefaßt Man beschränkte sich nicht nur auf die Verwendung von Seren, sondern man benutzte auch defibriniertes und verdünntes Blut selbst zur Herstellung des Kulturbodens. So entstanden eine Reihe von guten Nährböden, von denen als beste der Lewinthal'sche-Kochblutagar und der Casper-Bieling'sche-Pferdeblutwasser-Agar angeführt werden sollen.

Auf allen diesen Kulturböden wuchsen Gonokokken; man berichtete von ausgezeichneten Erfolgen. Doch machte man die eigentümliche Erfahrung, daß die Kulturen nicht regelmäßig angingen. Diesem Übel abzuhelfen, ging man nun daran, die physikalischen Lebensbedingungen zu ändern. Man sprach davon, daß der Gonococcus ein außerordentlich sauerstoffbedürftiger Mikroorganismus wäre. Man bezeichnete ihn im Gegensatz dazu als fakultativen Anaerobier. Es wurden halbfeste und flüssige Nährböden hergestellt, um das vermeintliche große Wasserbedürfnis zu stillen. Kurz, alle Annahmen und Milieuänderungen hatten nicht den erhofften Erfolg. Man mußte sich mit der Erklärung begnügen, nicht alle Gonokokkenstämme seien eben zur Kultur zu bringen.

Mit dieser Erklärung war man jedoch dem Ziel, die Kulturmethode zur Sicherstellung der Diagnose anzuwenden, um keinen Schritt nähergekommen.

Man hatte aber den richtigen Weg beschritten, indem den beiden Faktoren: Feuchtigkeit und Sauerstoffspannung das Hauptgewicht bei der Gonokokkenzüchtung beigemessen wurde.

Um den Nährboden vor dem Austrocknen zu schützen, bewahrte Lorentz (3) die unbeimpften Platten in seiner „Feuchtkammer" auf, worunter er eine Glasglocke verstand, in derem Hohlraum durch Anwesenheit von Wasser für maximale Feuchtigkeit der Luft gesorgt war. Während der Bebrütung beimpfter Platten hielt

er eine Erhaltung der Feuchtigkeit des Nährbodens nicht für erforderlich. Bei seinen Versuchen stellte er außerdem fest, daß ein Wachstum von Gonokokken in reiner O-Atmosphäre nicht erfolgte.

Krantz (4) hatte erkannt, daß auch während der Bebrütung für eine gleichmäßige Feuchtigkeit gesorgt werden müsse und stülpte deshalb den beschickten Plattenboden in eine Schale von Sublimatlösung. Hierdurch ist zuerst eine wirkliche feuchte Kammer für die Gonokokkenzüchtung verwendet worden, da auch mit dieser Methode Luftabschluß erzielt wurde. Aber der Abschluß der Kulturen von der äußeren Luft war hier nur im Interresse einer ausreichenden Feuchtigkeitsversorgung geschehen. Hiergegen legten andere Forscher entscheidenden Wert auf die Sauerstoffspannung und versuchten, Gonokokken unter anaeroben Bedingungen zu kultivieren. Wertheim (5) erhielt hierbei „besonders kräftiges Wachstum". Du Mesnil (6) sprach von „Wachstum" schlechthin. Hartmann (7) erzielte „besseres Wachstum bei herabgesetzter O-Spannung".

Wassermann (8) beobachtete jedoch ein Zugrundegehen der Kulturen bei O-Abschluß.

Trotz der günstigen Ergebnisse, die alle diese Maßnahmen aufzuweisen hatten, wurde man jedoch durch häufige Rückschläge darüber belehrt, daß das Kapitel Gonokokkenzüchtung noch nicht zum Abschluß gebracht war.

Erst im Jahre 1935 werden Methoden angegeben, die im Wesentlichen auf Anwendung der „Feuchten Kammer" für Gonokokkenkulturen beruhen, und die weitaus günstigere Resultate ergaben, als sie je zuvor auf einem festen Nährboden erzielt worden waren.

Die Bildung einer feuchten Kammer durch eine verschlossene Petrischale ist bereits im Jahre 1910 durch Lentz (9) eingeführt worden. Schon hier wurde der Verschluß mittels einer Glasplatte und Plastilin bewirkt. Fortner (10) stellte sich eine feuchte Kammer her, indem er einfach die Petrischalen mit Plastilin abdichtete. Für seine späteren Versuche übernahm er jedoch die von Lentz angegebene Methode.

Das Anwendungsgebiet der Feuchten Kammer beschränkte sich anfangs nur auf die Anaerobenzüchtung. Erst Koch (11) verschaffte ihr einen weiteren Spielraum dadurch, daß er sie auch für Kulturen von Aerobiern, darunter auch Gonokokken, heranzog.

Gleichzeitig hatte auch Neumann (12) bei spezieller Gonokokkenzüchtung mit der Feuchten Kammer derart günstige Erfolge erzielt, daß hierdurch folgende Arbeit angeregt wurde.

Herstellung der feuchten Kammer.

Um mögliche Fehlerquellen auszuschalten, wurde eine strenge Anlehnung an Neumann's Vorschriften befolgt, wie er sie in der „Dermatologischen Wochenschrift" Nr. 29, 1935 unter dem Titel „Eine neue Gonokokken-Kulturmethode" veröffentlichte.

Als Kulturboden gelangt der Casper-Bieling'sche Pferdeblutwasser-Agar zur Anwendung.

Frisches, steril aufgefangenes Pferdeblut wird defibriniert. Mit $^1/_3$ Vol. Aqua dest. vermischt, leicht durchgeschüttelt und 30 Minuten lang im Wasserbad von 57—58° C gehalten. Der Agar ist gewöhnlicher, 2,5 prozentiger Rindfleischagar mit einer pH von 7,6. Hat der verflüssigte Agar bei der Abkühlung eine Temperatur von 50—55° C erreicht, wird eine Mischung mit dem haemolysierten und inaktivierten Blut vorgenommen. Ein Teil Blut kommt auf vier Teile Agar. Die Herstellung des Agarblutgemisches muß recht vorsichtig geschehen, um eine Schaumbildung zu verhindern. Dann wird das Gemisch auf Petrischalen verteilt und bis zum Erstarren unberührt gelassen.

Für die Gonokokkenzüchtung werden nicht normale, 2 cm hohe Schalen verwendet, sondern flache, 1 cm hohe Petrischalen. Nach der Abkühlung des gegossenen Nährbodens werden die mit Kondenzwasser bedeckten Schalendeckel gegen trockene ausgewechselt, und nun werden die Platten mit dem Deckel nach oben über Nacht zum Trocknen in den Brutschrank von 37° C gestellt. Diese Trocknung muß unbedingt geschehen, um ein späteres Überfließen von Kondenswasser auf die beimpfte Agaroberfläche zu verhindern. Am nächsten Tag sind die Platten verwendungsfähig. Überzählige werden in den Eisschrank gebracht, dem sie dann von Fall zu Fall zum Gebrauch entnommen werden können.

Nach der Überimpfung von gonokokkenhaltigem Material erfolgt nun durch luftdichten Verschluß der Platten die Bildung der Feuchten Kammer.

Luftabschluß der Platte läßt sich durch viele Möglichkeiten erreichen. Sei es durch Lackarten und Harze, sei es durch Paraffin, Ceresin und auch Plastilin. Auch hierbei wurden die Angaben Neumann's befolgt, der als Verschlußmittel Plastilin verwendet. Später wurden jedoch auch einige Versuche mit Ceresin als Dichtungsmittel unternommen, wie es Koch zur Herstellung der Feuchten Kammer angegeben hatte. Doch wurde der Plastilinverschlußmethode auch weiterhin der Vorzug gegeben, einfach aus dem Grunde, weil mit Plastilin schon länger gearbeitet war und damit eine größere Verschlußschnelligkeit erreicht wurde.

Zum Verschluß wird die beimpfte Platte auf eine sterilisierte Glasplatte von etwa 13 x 13 cm Größe gestülpt — die vorher über der Gasflamme kurz abgeflammt wird, bis sie mit dem Daumenballen gerade noch berührbar ist — und sofort mit Plastilin fest verschlossen. Vordem ist das Plastilin bereits durchgeknetet und zu einem Strang von etwa Bleistiftdicke ausgerollt worden. Von Wichtigkeit ist, daß das Plastilin fast augenblicklich fest anmassiert wird, um eine Entstehung von Luftbläschen und Luftkanälchen zu unterbinden. Ein Haften der Masse wird durch eine zu stark erhitzte Glasplatte verhindert, da dann Öl austritt und hierdurch ein Anpressen unmöglich gemacht wird. Bevor die Platte in den Brutschrank kommt, wird durch die Verschlußplatte hindurch kontrolliert, ob überall Abdichtung erfolgt ist. Ist man dessen sicher, kann sie

dem Thermostaten überlassen werden, aber stets mit der Glasplatte nach unten.

Durch den sofortigen Verschluß der Petrischale mit der heißen Glasplatte entsteht ein luftverdünnter Raum über dem Agar, dessen wirkliches Vorhandensein durch das zischende Einströmen der Luft bei der Öffnung bewiesen wird. Dieser verringerte Luftdruck in Verbindung mit der gleichmäßigen Feuchtigkeit sind wahrscheinlich die Ursachen für das gute Angehen der Gonokokkenkulturen.

Einige Bemerkungen, die sich auf den Nährboden und dessen Herstellung beziehen, sollen hier noch eingeschaltet werden.

Es ist zweckmäßig und vorteilhaft, eine größere Menge von Platten, etwa 20—30, gleichzeitig zu gießen; denn das Pferdeblut hat nur eine beschränkte Verwendungsdauer. Als Ausnahme ist zu erwähnen, daß in einem Falle Kulturboden mit einem Blut hergestellt wurde, das seit 10 Tagen im Eisschrank aufbewahrt worden war. Meistens treten jedoch im Blut nach 3—4 Tagen Zeichen der Unsterilität auf, wodurch eine Verwendung für Nährböden natürlich ausgeschlossen ist.

Der pH-Gehalt des fertigen Nährbodens wurde nach 2 maligen, zeitlich auseinander liegenden Kontrollversuchen mit 7,5 festgestellt.

Ergebnisse des Wachstums von Gonokokken in der Feuchten Kammer.

Es sind in der Feuchten Kammer im Verlauf von 4 Monaten von 100 verschiedenen Stämmen 98 Gonokokkenstämme primär zur Kultur gebracht worden. Diese 98 Stämme verteilen sich nach ihrer Herkunft folgendermaßen:

Gonorrhoe.

Männlich		*Weiblich*	
Go. ant.	*11*	*Urethritis gon.*	*20*
Go. ant. et post.	*23*	*Cervix-Go.*	*17*
Epididymitis	*7*	*Rectum-Go.*	*1*
Prostatitis	*5*	*Bartholinitis*	*4*
Go. ant. et post. + Epidid., Prostatitis u. Funiculitis	*8*	*Vulvovaginitis*	*2*
Männlich	*54*	*Weiblich*	*44*

Insgesamt 98

Der Beimpfung einer Platte mit gonokokkenverdächtigen Material wurde regelmäßig eine Mikroskopische Untersuchung vorausgeschickt Nur bei sicherer Anwesenheit von Gonokokken wurde eine Übertragung auf den Kulturboden vorgenommen. Von den ersten 10 Stämmen wurden gleichzeitig zwei Platten angelegt. Es stellte sich jedoch heraus, daß durch diese Maßnahme kein größerer Sicherkeitsfaktor erzielt werden konnte; denn beide Kulturen zeigten gleich gutes Wachstum. Deshalb wurde nunmehr nur noch eine Platte für jeden Stamm bereit gehalten.

Da sich ein Mangel an Material in der Universitätsklinik bemerkbar machte, wurde es notwendig, von anderen Stellen Gonokokkenstämme zu beschaffen. Hierbei dauerte es oft mehrere Stunden, bis die beimpften Platten verschlossen und in den Brutschrank gestellt werden konnten. Trotzdem es kalte Jahreszeit war — der Zeitraum der Versuche erstreckte sich von Oktober 1935 bis Januar 1936 — und die Petrischalen lediglich gegen Zerbrechlichkeit mit Zellstoff umwickelt in einer Aktentasche getragen wurden, hat sich doch niemals ein Versager eingestellt. In einem Falle ergab sich die Notwendigkeit, 3 beschickte Platten über Nacht bei Zimmertemperatur unverschlossen, d h. nur mit dem Schalendeckel versehen, aufbewahren zu müssen. Erst 15 Stunden nach der Beimpfung wurde der ordnungsgemäße Verschluß hergestellt. Auch hierbei waren nach 24 stündiger Bebrütung zahlreiche Gonokokkenkolonien gewachsen. Eine übermäßig große Temperaturempfindlichkeit scheint demnach den Gonokokken nicht zu eigen zu sein.

Wachstumsunterschiede von Stämmen männlicher und weiblicher Patienten haben sich nicht feststellen lassen. Doch zeigten Platten, die mit Cervixsekret beschickt waren, häufig ein Angehen in Reinkultur, während alle anderen Kulturen durch Begleitbakterien mehr oder weniger verunreinigt waren.

Es wurde eingangs behauptet, daß nur Kulturen von mikroskopisch positivem Material angelegt wurden. In zwei Fällen mußte hiervon Abstand genommen werden, da sich mikroskopisch keine Gonokokken nachweisen ließen:

Fall 11. E. T. 31 Jahre, weiblich. Weiß nichts von ihrer Erkrankung. Als Infektionsquelle gemeldet und in die Klinik eingewiesen.

Die täglichen mikroskopischen Untersuchungen ergeben ständig negativen Gonokokkenbefund. Trotz Provokationen. Am 7. Tag werden Kulturen von Cervix-, Urethra- und Rectumsekret angelegt. Auch jetzt wieder negativer mikroskopischer Befund. Nach 24 Stunden sind auf der mit Urethralsekret beimpften Platte zahlreiche Gonokokkenkolonien gewachsen.

Fall 40. W. 34 Jahre, weiblich. Als vermeintliche Infektionsquelle von der Gesundheitsbehörde dem Krankenhaus zur Beobachtung überwiesen. Mikroskopisch

auch nach Provokation immer negativ. Am 3. Tag Anlegung von Kulturen. Beide Platten mit Cervix- und Urethralsekret weisen nach 24 Stunden unzählige Gonokokkenkolonien auf.

Es ist ja eine bekannte Tatsache, daß sich bei weiblicher Gonorrhoe ein mikroskopisch positiver Gonokokkenbefund erst nach der Menstruation als sogen. physiologischer Provokation einstellt. Durch die positiven Kulturergebnisse konnte jedoch eine spezifische Therapie sogleich eingeleitet und dadurch zum mindesten ein erheblicher Zeitgewinn erzielt werden.

Zu den 98 primär angegangenen Kulturen treten noch 2 Fälle hinzu, bei denen sich kein sofortiges Wachstum zeigte. In beiden Fällen handelte es sich um männliche Gonorrhoe, und zwar um Go. ant. et post. mit beträchtlichem Ausfluß und mikroskopisch Go. +++ Befund.

Fall 17. G. R., 27 Jahre, männlich. Go. ant. et post. 1928 hat der Patient seine erste Gonorrhoe erworben. Wurde behandelt und geheilt. Seit 8 Tagen wieder Ausfluß aus der Harnröhre, der täglich zunimmt und eine Überweisung in die Klinik erforderlich macht.

Es wird sofort eine Kultur angesetzt. Doch läßt die zähe Beschaffenheit des Sekrets eine feine Verteilung auf dem Nährboden nicht zu. Nach 24 stündiger Bebrütung ist die Platte noch vollständig steril. Inzwischen ist der Patient einer intensiven therapeutischen Spülbehandlung unterzogen worden. Der Ausfluß ist am nächsten Tag erheblich reduziert. Es wird nun erneut eine Platte beimpft und nach 24 Stunden sind jetzt zahllose Gonokokkenkolonien gewachsen. Die erste Kultur ist auch am 2. Tage der Bebrütung noch völlig steril.

Fall 50. R. 40 Jahre, männlich. Go. ant. et post. Angeblich erste gonorrhoische Infektion. Vor zwei Wochen tritt Ausfluß aus der Harnröhre auf. Patient ist Seemann und wird auf dem Schiff mit Spülungen behandelt. Nach achttägiger Behandlung ist der Ausfluß verschwunden. Drei Tage später erneut Ausfluß, der sich jetzt von Tag zu Tag verstärkt. Die Spülbehandlung wird fortgesetzt, bis der Patient in die Klinik eingeliefert werden kann.

Befund: Starker, rahmiger Ausfluß.
Mikroskopisch Go. +++.

Gleichzeitg mit der Anlegung einer Kultur wird ein Sekrettropfen in 5 ccm Peptonbouillon aufgeschwemmt und nach 6 stündigem Aufenthalt im Brutschrank von einer Eiterflocke eine zweite Kultur angesetzt.

Die erste Kultur ist auch nach 48 Stunden noch völlig steril. Bei der zweiten läßt sich ein geringfügiges, aber doch sicheres Wachstum feststellen.

Es ist auffällig, daß die Primärkulturen beider Fälle auch nach 48 stündiger Bebrütung absolute Sterilität zeigten. Entweder wurden alle Mikroorganismen durch das reichlich stark ausgestrichene Sekret überlagert, sodaß ein völliger Sauerstoffabschluß vorhanden war, oder durch die Vitalität der im Uebermaß vorhandenen Leukocyten an ihren Lebensäußerungen gehindert.

Da diese beiden Fälle die einzigen waren, die eine über normales Maß gesteigerte Sekretion aufwiesen, konnten hierüber keine weiteren Beobachtungen angestellt werden. Eine Reihe weiterer Versuche, durch Aufschwemmung von gonokokkenhaltigem Material in Peptonbouillon und Uebertragung kleiner Partikel auf Kulturböden ein Gonokokkenwachstum zu erzielen, verliefen vollkommen negativ.

Natürlich wurde die Feuchte Kammer auch für die Anlegung von Passagen herangezogen. Hierbei stellten sich eigenartige Ergebnisse ein Manche Stämme ließen sich ohne Schwierigkeiten bis zur 3. und 4. Generation übertragen, während sich andere Stämme überhaupt nicht fortpflanzen ließen. Da stets nur von 24 Stunden alten Kulturen Passagen angelegt wurden, kann ein Zugrundegehen durch Ueberalterung nicht angenommen werden. Durch Verschluß der Petrischale mit nicht abgeflammter, also kalter Glasplatte konnte verschiedentlich gutes Anwachsen beobachtet werden. Ebenfalls zeigten nur mit dem Schalendeckel versehene Kulturen deutliches Wachstum, wogegen die Kontrollplatten nicht angingen. Zu Versandzwecken wurden in einem Falle zwei Ascitesagarplatten beimpft und mit Papier umhüllt in den Brutschrank gebracht. Diese beiden Kulturen zeigten nach 24 Stunden zahlreiche Gonokokkenkolonien, obwohl die mit demselben Stamm beschickten Feuchten Kammern keinerlei Wachstum ergaben.

Eine ausreichende Begründung für diese Unsicherheit im Passagenwachstum konnte nicht gefunden werden. Doch scheint es, als ob einige Stämme zu ihrer Fortzüchtung mehr Sauerstoff benötigen, als ihnen die Feuchte Kammer bieten kann. Vielleicht ist es auch von Vorteil, einen Nährbodenwechsel vorzunehmen.

Die Erkennung der Gonokokkenkolonien auf dem Kulturboden ist durch ihr charakteristisches Verhalten nicht sehr schwierig; denn sie zeigen niemals Neigung, mit benachbarten Kolonien zu verschmelzen und bleiben deshalb auch immer die kleinsten Kolonien. In manchen Fällen muß man eine Lupe zu Hilfe nehmen, weil nach 24 stündiger Bebrütung die einzelne Ansiedlung eher stecknadelspitzen- als stecknadelkopfgroß ist. Das Aussehen ist immer glänzend und irisierend. Farblosigkeit überwiegt; oft zeigten die Kolonien auch einen weißlichen Farbton. Eine wirkliche Färbung wiesen einige Kulturen erst nach längerer Bebrütung — über 36 Stunden — auf: gelblich bis hellgelb war vorherrschend, doch traten auch einige hellgrau gefärbte Kolonien auf.

Zum Kapitel Diagnostik der Gonokokken sei erwähnt, daß sich uns die Gärungsprobe nach v. Lingelsheim als absolut unzuverlässig erwiesen hat. Eine Sicherstellung durch Agglutination oder durch Verimpfung auf Mäuse wurde für unnötig erachtet, da es sich ja nicht um bakteriologisch unbekanntes Material handelte. Deshalb wurde ausschließlich die Gramfärbung zur Diagnose herangezogen.

Um eine verläßliche Gramfärbung herzustellen, ist es unbedingt erforderlich, einwandfreie Farbstoffe zu verwenden, wie sie von der Firma Grübler & Co., Leipzig, geliefert werden. Fehlfärbungen traten regelmäßig auf, solange ein Karbolgentiaviolett zur Färbung benutzt wurde, das nicht aus jener Quelle stammte.

Die Kulturgonokokken zeigen neben allen gemeinsamen Eigenschaften mit den Gewebsgonokokken die chrakteristische Neigung, Involutions- oder Degenerationsformen zu bilden, die auch schon in 24 stündigen Kulturen anzutreffen sind. Diese großen, aufgequollenen, blaßgefärbten Gebilde, in deren Zentren körnige Detritusmassen liegen, haben sich als sicherstes Diagnostikum erwiesen.

Zusammenfassung.

1. Mit der Feuchten Kammer sind von 100 Gonokokkenstämmen 98 primär zur Kultur gebracht worden.
2. Zwei Stämme wuchsen, nachdem einmal eine Verringerung des Sekrets eingetreten war und im zweiten Fall eine Aufschwemmung in Peptonbouillon vorgenommen war.
3. In zwei Fällen wurde durch die Kulturmethode die Diagnose sichergestellt.
4. Für die Weiterzüchtung der Gonokokkenstämme in Passagen scheint die Feuchte Kammer nicht das geeignete Mittel zu sein.
5. Mit der Feuchten Kammer kann die Kulturmetkode als diagnostisches Hilfsmittel mit ausreichender Sicherheit herangezogen werden.

Am Schluß meiner Arbeit möchte ich nicht versäumen Herrn Prof. Dr. Mulzer für die Ueberlassung des Themas sowie Herrn Prizatdozent Dr. Hopf für seine liebenswürdige Beratung meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Schrifttum.

1. **Kolle und Wassermann:** Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. 2. Auflg. 1912, Bd. 4, S. 671.
2. **Jadassohn:** Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten. 1930. Bd. XX/1, S. 37.
3. **Delbanco und Lorentz:** Dermat. Woch. Nr. 39, S. 1139 (1923).
4. **Krantz:** Dermat. Woch. Nr. 36, S. 1234 (1927).
5. — 8. **Jadassohn:** Zitiert nach Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten. 1930 Bd. XX/1, S. 37.
9. **Lentz:** Zbl. Bakter. I. Orig. **53,** S. 358 (1910).
10. **Fortner:** Zbl. Bakter. I. Orig. **112,** S. 390 (1929).
11. **Koch:** Zbl. Bakter. I. Orig. **132,** S. 358 (1934).
    Zbl. Bakter. I. Orig. **133,** S. 209 (1935).
    Zbl. Bakter. I. Orig. **137,** S. 251 (1936).
12. **Neumann:** Dermat. Woch. Bd. 101, Nr. 29, S. 883, (1935).

Lebenslauf.

Am 16. 9. 1909 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Otto Wilcke und seiner Ehefrau Dora geb. Hüper in Peine geboren. Von 1916—26 besuchte ich die Realschule in Peine und von 1927—29 die Herzog Johann Albrecht-Oberrealschule in Braunschweig, wo ich Ostern 1929 die Reifeprüfung ablegte.

Von diesem Zeitpunkt bis Ostern 1930 war ich kaufmännischer Lehrling. Dann widmete ich mich dem medizinischen Studium. Die vorklinischen Semester verbrachte ich in Göttingen und Rostock, wo ich mein Vorexamen bestand. Die klinischen Semester belegte ich an den Universitäten in Graz, Göttingen, Königsberg und Hamburg. Hier bestand ich im Februar 1937 das Staatsexamen.